

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number : **58-116686**

(43) Date of publication of application : **11.07.1983**

(51) Int.Cl.

C12P 1/06
A01N 63/02
C07G 11/00
//(C12P 1/06
C12R 1/465)

(21) Application number : **56-214547**

(71) Applicant : **IDEMITSU KOSAN CO LTD**

(22) Date of filing : **29.12.1981**

(72) Inventor : **SUZUKI GENSHI**

KOBAYASHI IZUMI

MITSUTAKE KENICHIRO

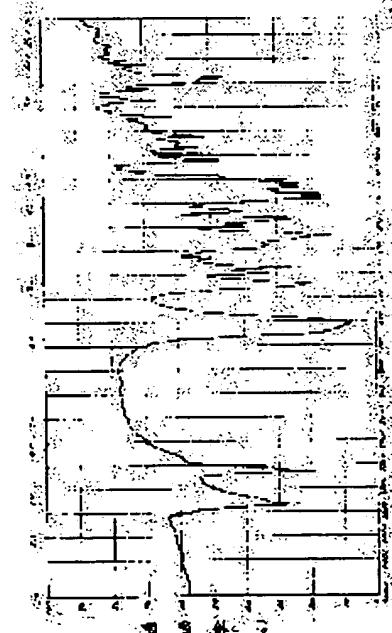
(54) NOVEL ANTIBIOTIC SUBSTANCE SI-4228 SUBSTANCE, ITS PREPARATION AND AGRICULTURAL FUNGICIDE CONTAINING SAID SUBSTANCE AS ACTIVE COMPONENT

(57) Abstract:

PURPOSE: To provide a fungicide containing a specific novel antibiotic substance derived from microorganism belonging to *Streptomyces* genus as an active component, and useful as an agricultural fungicide, pharmaceutical, etc.

CONSTITUTION: The fungicide contains, as an active component, the novel antibiotic substance SI-4228 having the following properties. (a) Elemental analysis, C 62.1%, H 7.4%, N 0%; (b) molecular weight, 480 (by vapor pressure using chloroform as the solvent); (c) infrared absorption spectrum, as shown in the figure; (d) ultraviolet absorption spectrum, a particular pattern (omitted); (e) nuclear magnetic resonance spectrum, a particular pattern (omitted), (f) specific rotation, $[\alpha]$

$25D=+73^\circ$ (C=1.0, methanol); (g) solubility, soluble in methanol, benzene, etc. and insoluble in water and n-hexane; (h) neutral (by electrophoresis); (i) color reaction, positive to ferric chloride, etc. and negative to ninhydrin; (j) melting point, 114W116°C; (k) appearance, white acicular crystal. The antibiotic substance SI-4228 is remarkably effective especially to gray



mold, sheath blight, rice blast, etc.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

⑨ 日本国特許庁 (JP) ⑩ 特許出願公開
 ⑪ 公開特許公報 (A) 昭58-116686

⑫ Int. Cl.³ 識別記号 庁内整理番号
 C 12 P 1/06 6760-4B
 A 01 N 63/02 7731-4H
 C 07 G 11/00 6956-4H
 // (C 12 P 1/06 —
 C 12 R 1/465) 6760-4B

⑬ 公開 昭和58年(1983)7月11日
 発明の数 3
 審査請求 未請求

(全 14 頁)

⑭ 新規抗生物質 SI - 4228 物質、その製造方法
 およびそれを有効成分とする農業用殺菌剤

千葉県君津郡袖ヶ浦町上泉1218
 番地の 2

⑮ 特願 昭56-214547

千葉県君津郡袖ヶ浦町上泉1727

⑯ 出願 昭56(1981)12月29日

番地

⑰ 発明者 鈴木源士

⑯ 出願人 出光興産株式会社

千葉県君津郡袖ヶ浦町上泉1660

東京都千代田区丸の内三丁目 1

番地

番 1 号

⑰ 発明者 小林泉

⑰ 代理人 弁理士 久保田藤郎

明細書

① 懸念点 114 ~ 116 °C

② 物質の色 白色針状結晶

1. 発明の名称

新規抗生物質 SI - 4228、その製造方法およびそれを有効成分とする農業用殺菌剤

2. 特許請求の範囲

1. 下記の性質を有する新規抗生物質 SI - 4228。

(1) 元素分析値 C: 62.1%, H: 7.4%, N: 0%

(2) 分子量 480 (蒸気圧法による、溶媒: クロロホルム)

(3) 赤外線吸収スペクトル 第 1 図に示す通りである。

(4) 紫外線吸収スペクトル 第 2 図に示す通りである。

(5) 核磁気共鳴スペクトル 第 3 図に示す通りである。

(6) 比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = +73$ (C=1.0, メタノール)

(7) 溶解性 メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, クロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水, ナ-ヘキサンに不溶

(8) 中性 (電気泳動法による)

(9) 呈色反応 塩化第二鉄, 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性

2. ストレプトミセス菌に属し、下記の性質を有する抗生物質 SI - 4228

(1) 元素分析値 C: 62.1%, H: 7.4%, N: 0%

(2) 分子量 480 (蒸気圧法による、溶媒: クロロホルム)

(3) 赤外線吸収スペクトル 第 1 図に示す通りである。

(4) 紫外線吸収スペクトル 第 2 図に示す通りである。

(5) 核磁気共鳴スペクトル 第 3 図に示す通りである。

(6) 比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = +73$ (C=1.0, メタノール)

(7) 溶解性 メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, クロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水, ナ-ヘキサンに不溶

(8) 中性 (電気泳動法による)

(9) 呈色反応 塩化第二鉄, 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性

(10) 懸念点 114 ~ 116 °C

(11) 物質の色 白色針状結晶

を生産する能力を有する微生物を探し、培養物から上記抗生物質を採取することを特徴とする新規抗生物質 SI - 4 2 2 8 の製造法。

3.ストレプトミセス属に属し、抗生物質 SI - 4 2 2 8 を生産する能力を有する微生物がストレプトミセス・エスピーアー SI - 4 2 2 8 (FERM P - 6 1 9 8) である特許請求の範囲第2項記載の方法。

4.下記の性質を有する新規抗生物質 SI - 4 2 2 8

- (1)元素分析値 C: 62.1%, H: 7.4%, N: 0%
- (2)分子量 480 (熱気圧法による溶解度:クロロホルム)
- (3)赤外線吸収スペクトル 第1図に示す通りである。
- (4)紫外線吸収スペクトル 第2図に示す通りである。
- (5)核磁気共鳴スペクトル 第3図に示す通りである。
- (6)比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = +75$ (O=1.0, メタノール)
- (7)溶解性 メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, クロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水, n-ヘキサンに不溶
- (8)中性 (電気泳動法による)

- 3 -

蓄積しうる微生物が用いられ、具体的には本発明者らが宮崎県都城市山林から分離したストレプトミセス・エスピーアー SI - 4 2 2 8 株がある。この菌株の歴学的性質を以下に示す。

I 形態

- (1)胞子形成菌糸の分枝法 単純分枝
- (2)胞子形成菌糸の形態 直線状
- (3)胞子の数 10胞子以上/連鎖
- (4)胞子の表面連鎖 滑らか
- (5)胞子の大きさ $0.75 \mu m \times 1.25 \mu m$
- (6)鞭毛胞子 無
- (7)胞子のう 無
- (8)胞子柄着生位置 気菌糸上
- (9)菌核形成 無

II 各種培地における生育状態

(1)栄養寒天培地

生育: やや悪く、裏面は周辺部で淡黄色 ($2.5 Y, 8.5/6$), 中心部で透明
気菌糸: 着生せず
可溶性色素: 生成せず

(1)呈色反応
化第二鉄, 2, 4-ジニトロフェニルヒドランに陽性、ニンヒドリンに陰性

(2)融点 $114 \sim 116^{\circ}C$
物理的性質 白色針状結晶

を有効成分として含有する農業用殺菌剤。

5.灰色カビ病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農業用殺菌剤。

6.炭疽病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農業用殺菌剤。

7.紋枯病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農業用殺菌剤。

8.イモチ病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農業用殺菌剤。

3.発明の詳細な説明

本発明は新規抗生物質 SI - 4 2 2 8, その製造法およびそれを有効成分とする農業用殺菌剤に関する。

本発明の新規抗生物質 SI - 4 2 2 8 の生産菌としては、その培養物中に十分な量の該抗生物質を

- 4 -

(2)グリセリン・アスパラギン寒天培地

生育: やや悪く、裏面は淡赤褐色 ($1.0 R, 3/4$)

気菌糸: 一面に粉状に着生し、やや赤味を帯びた灰色 ($5 Y R, 6/1$)

可溶性色素: 生成せず

(3)シュークロース・硝酸塩寒天培地

生育: 普通の生育をし、裏面は周辺部でエビ茶色 ($7.5 R, 2/6$), 中心部で明るい赤褐色 ($7.5 R, 4/6$)

気菌糸: まばらに着生するが、周辺部で比較的良くやや赤味を帯びた灰色 ($2.5 Y R, 7/2$)

可溶性色素: 淡赤褐色

(4)グルコース・アスパラギン寒天培地

生育: やや悪く、裏面は黄土色 ($1.0 Y R, 5/6$)

気菌糸: 一面に粉状に着生し、やや赤味を帯びた灰色 ($5 Y R, 7/2$)

可溶性色素: 生成せず

(5)デンプン・無機塩寒天培地

生育：普通の生育をし、
周辺部で象牙色(5 Y, 8 5/6), 中心部で白色
気菌系：一面に粉状に着生し、灰白色(10 R, 8/1)

可溶性色素：生成せず

(6) チロシン寒天培地

生育：普通の生育をし、裏面は茶褐色(2 5 Y R, 2/2)

気菌系：一面に旺盛に着生し、灰色(10 R, 5/1)でピロード状

可溶性色素：淡褐色

(7) 酵母・芽孢寒天培地

生育：普通の生育をし、裏面は黄土色(10 Y R, 6/6)

気菌系：まばらに着生するが、周辺部で比較的良好く着生し灰色(10 Y R, 6/1)

可溶性色素：淡黄色

(8) オートミール寒天培地

生育：普通の生育をし、裏面は周辺部で黄土色(7.5 Y R, 5/6), 中心部で無色

気菌糸：まばらに着生するが、周辺部で比較的良好く着生し灰色(5 Y R, 7/1)

可溶性色素：淡黄色

III 生理的性質

(1) 生育温度範囲

生育温度：20～45°C, 生育適温：35～42°C (40°C付近で菌体、培地とも黄色)

(2) ゼラチンの液化 液化する

(3) テンブンの加水分解 強く分解する

(4) 脱脂牛乳の凝固、ペプトン化

凝固せず、ペプトン化せず(褐変する)

(5) メラニン様色素の生成

ペプトン・イースト・鉄寒天培地、チロシン寒天培地のいずれも黒変する

IV 炭素源の同化性

炭素源	生育	炭素源	生育
L-アラビノース	+	イノシトール	+
D-キシロース	+	L-ラムノース	+
D-グルコース	+	ラフィノース	+
D-フラクトース	+	D-マンニトール	+
シュークロース	+	無添加	-

- 8 -

上記したストレプトミセス・エスピ- SI - 4228 株の生物学的性質の特徴をまとめると次の通りである。

- (1) 灰色の気菌系を着生する
- (2) 气菌系は単純分枝し、直線状である
- (3) 孢子平面は平滑である
- (4) 孢子は10孢子以上連鎖する
- (5) メラニン様色素を生成する
- (6) 脱脂牛乳を凝固せず、ペプトン化しない
- (7) テンブンを良く分解する
- (8) 淡褐色ないし淡褐色の色素以外に特徴的な色素を生産しない
- (9) 各種の糖を良く利用する

以上の諸性質を有する既知菌株としてストレプトミセス・フェオブルプレウス (*Streptomyces phaeopurpureus*, International Journal of Systematic Bacteriology, 第3卷, 第35頁, 1968年) が挙げられる。しかしながら、オートミール、グリセリン、アスパラギン、シュークロース、硝酸塩等の各寒天培地上で SI - 4228 株の生育の裏面は淡黄色な

いし淡褐色であるのに対し、ストレプトミセス・フェオブルプレウスは赤褐色である。また、上記培地上での生産色素も SI - 4228 株は淡褐色ないし淡褐色であるのに対してストレプトミセス・フェオブルプレウスは淡褐色ないし赤褐色である。したがつて、これらのことから SI - 4228 株はストレプトミセス・フェオブルプレウスの 1 系統と思われるが、未同定の種であると考えられる。そこで、本発明者は本菌株をストレプトミセス・エスピ- SI - 4228 株と命名した。本菌株はストレプトミセス・エスピ- SI - 4228 株として微工研に寄託されており、その受託番号は PERM P - 6198 である。

本発明においては、上記菌株のはか人工的変異手段によつて変異して得られる変異株であつても抗生物質 SI - 4228 を生産する能力を有するものはすべて使用することができる。

新規抗生物質 SI - 4228 は上記した抗生物質 SI - 4228 生産菌を培養し、培養物から該抗生物質を採取することによつて得ることが出来る。

培養は微生物が利用できる栄養源を含有する培地を用いて行ない、たとえば炭素源としてグルコース、シュークロース、デンプン、水アメ、デキストリン、グリセリンなどを使用できる。また、窒素源としては硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウム、肉エキス、コーン・ステイプ・リカ、ベブトン、乾燥酵母、コーン・グルテン、大豆粉その他の有機または無機の窒素化合物などを使用することができる。その他必要に応じて食塩、リン酸塩類、カルシウム、亜鉛、マグネシウム、鉄などの無機塩類を添加したり、微生物の生育を助け、抗生物質SI-4228の生産に有用な物質を適宜添加することができる。

培養は好気的条件下に行なわれ、通常は25～34°C、好ましくは28～32°Cの温度で3～10日間、好ましくは4～6日間行なうことによつて抗生物質SI-4228の蓄積量が最高となる。抗生物質SI-4228は培養液内に蓄積されると、菌体内にも蓄積される。

本発明の抗生物質SI-4228は後記する理化

学的性質を有する。
酸性質を考慮して抽出、精製を行なう。すなわち、培養物に①酢酸エチル等の有機溶剤を加えて抽出を行ない、得られた抽出液を適当な手段によつて濃縮後、ベンゼンを用いて転溶する。次いで、シリカゲルカラムで分離、精製する②培養物の濁液をイオン交換樹脂または活性炭吸着に付し、次いで溶出を行なつた後、前述の如くシリカゲルカラムで分離精製し、さらにゲル通過を行なつてから結晶化せしめる等の方法によつて精製された抗生物質SI-4228を得ることができる。

このようにして得られた抗生物質SI-4228は以下の如き理化学的性質を有している。

(1) 元素分析値 C:62.1%, H:7.4%, N:0%

(2) 分子量 480(蒸気圧法による、溶媒:クロロホルム)

(3) 赤外線吸収スペクトル 第1図に示す通りである。

(4) 紫外線吸収スペクトル 第2図に示す通りである。

(5) 核磁気共鳴スペクトル 第3図に示す通りである。

(6) 比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = +75$ (D=1.0, メタノール)

(7) 溶解性 メタノール、エタノール、アセトン、酢酸

-11-

エチル、ベンゼン、エーテル、クロロホルム、四塩化炭素に可溶、水、n-ヘキサンに不溶

(4) 中性(電気泳動法による)

(1) 呈色反応 塩化第二鉄、2,4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性

(2) 融点 114～116°C

(3) 物質の色 白色針状結晶

抗生物質SI-4228についてボテト・グルコース寒天培地を用い倍数希釈法により求めた各種微生物に対する最小発育阻止濃度は次のとおりである。

第2表

供試菌	最小発育阻止濃度(mg/ℓ)
エシエリヒア・コリ (<i>Escherichia coli</i>)	>100
バチルス・ズブテイリス (<i>Bacillus subtilis</i>)	>100
エルウェイニア・アロイデア (<i>Erwinia aroideae</i>)	>100

-12-

第2表(続)

供試菌	最小発育阻止濃度(mg/ℓ)
キサントモナス・キヤンストリス・ビブイオリゼー (<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>oryzae</i>)	>100
シュードモナス・ラクリマンス (<i>Pseudomonas lachrymans</i>)	>100
コリネバクテリウム・ミチガネンス (<i>Corynebacterium michiganense</i>)	>100
アグロバクテリウム・テュメファシエンス (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>)	>100
マイコバクテリウム・フレイ (<i>Mycobacterium phlei</i>)	>100
サツカロミセス・セレビシエ (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	100
アスペルギルス・ニガー (<i>Aspergillus niger</i>)	>100
ピリキュラリア・オリゼー (<i>Pyricularia oryzae</i>)	25
アルタナリア・マリ (<i>Alternaria mali</i>)	50
ボトリテイス・シネレア (<i>Botrytis cinerea</i>)	50
ペリキュラリア・ササキイ (<i>Pellicularia sasakii</i>)	1.56
フザリウム・オキスボラム (<i>Fusarium oxysporum</i>)	100

-490-

-13-

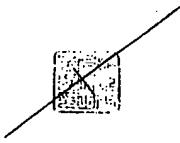
-14-

供 試 菌	最小発育阻止濃度(mg/100ml)
グロメレラ・シンギュラータ (<i>Glomerella cingulata</i>)	5.0
コレトリカム・ラゲナリウム (<i>Colletotrichum lagenarium</i>)	2.5
スクレロチニア・スクレロチオルム (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>)	2.5
ピシウム・アフアニデルマータム (<i>Pythium aphanidermatum</i>)	1.2.5

本発明の抗生物質 SI - 4228 は農業用殺菌剤や医薬などとして有用であり、特に灰色カビ病、炭疽病、紋枯病、イモチ病などに対して既存の殺菌剤よりも広範囲で十分な防除効果を示す。

前記した理化学的性質と生物学的性質を有する抗生物質 SI - 4228 を既知物質と比較しても該当するものがなく、本物質は新規な抗生物質である。

次に、本発明の実施例を示す。



- 15 -

分を集めた。この画分を40℃で減圧濃縮、乾固した後、5mlのクロロホルムを加えて溶解した。一方、セファデックス LH-20 をクロロホルムに分散せしめた後、径1.5mm、長さ1mのガラスカラムに充填した。カラムの上端に SI - 4228 物質を含むクロロホルム溶液をのせ、クロロホルムを展開液として分子篩による精製を行なつた。 SI - 4228 物質を含む画分をフラクションコレクターで集め、濃縮乾固したのち少量のアセトンを加え、さらにローヘキサンを加えて室内に2日間放置して4.5mmの針状結晶を得た。この物質は前記した理化学的性質を有していた。

実施例 2

pH 6.8 に調整したグルコース4%、ポリペプトン0.1%、酵母エキス0.5%、NaCl 0.08%、K₂HPO₄ 0.18%、コーン・ステイプル・リカーレ0.4%を含む培地100mlを容量500mlのマイヤーフラスコ100本に100mlずつ分注し、20℃で15分間放菌した。この培地にストレプトミセス・エスピーアイ-4228株(FERM-P-6/98)を斜面培地から1白金耳ずつ接種した。接種後、32℃で96時間回転振盪培養(回転数200r.p.m.)した。この培養物を集め、6mlの酢酸エチルを加えて20分間攪拌した後酢酸エチル層を集めた。酢酸エチル層に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水後、40℃で減圧濃縮乾固した。濃縮物に1mlのベンゼンを加え、不溶物をろ過して除いた。溶解液は5mlになるまで減圧濃縮した。

実施例 1

特開昭58-116086(5)

pH 6.8 に調整したグルコース3%、ポリペプトン0.1%、NaCl 0.08%、K₂HPO₄ 0.12%、コーン・ステイプル・リカーレ0.4%を含む培地100mlを容量500mlのマイヤーフラスコ100本に100mlずつ分注し、20℃で15分間放菌した。この培地にストレプトミセス・エスピーアイ-4228株(FERM-P-6/98)を斜面培地から1白金耳ずつ接種した。接種後、32℃で96時間回転振盪培養(回転数200r.p.m.)した。この培養物を集め、6mlの酢酸エチルを加えて20分間攪拌した後酢酸エチル層を集めた。酢酸エチル層に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水後、40℃で減圧濃縮乾固した。濃縮物に1mlのベンゼンを加え、不溶物をろ過して除いた。溶解液は5mlになるまで減圧濃縮した。

シリカゲル(メルク社製)30gにベンゼンを加え、20mlのガラスカラムに充填し、濃縮物をカラムの上端にのせ吸着せしめた。次いで、n-ヘキサン：アセトン(1/5:1)の液を流し、フラクションコレクターで SI - 4228 物質溶出画

- 16 -

分を集めた。この画分を40℃で減圧濃縮、乾固した後、5mlのクロロホルムを加えて溶解した。一方、セファデックス LH-20 をクロロホルムに分散せしめた後、径1.5mm、長さ1.5mのガラスカラムに充填した。カラムの上端に SI - 4228 物質を含むクロロホルム溶液をのせ、クロロホルムを展開液として分子篩による精製を行なつた。

培養後、除菌した沪液をイオン交換樹脂アンバーライト XAD-2.8gを充填した径100mm、長さ1mのカラムに通し、有効成分を吸着せしめた。その後、吸着した有効成分をアセトン20mlを流して溶出せしめた。溶出液を50℃で減圧濃縮し7.2gの固型物を得た。固型物にクロロホルムを加えて溶解する画分を集め、40℃で濃縮乾固し、6.2gの固型物を得た。

一方、セファデックス LH-20 をクロロホルムに分散し、径4.0mm、長さ1.5mのガラスカラムに充填した。このカラム上端に少量のクロロホルムに溶解せしめた固型物をのせ、クロロホルムを展開液としてフラクションコレクターで SI - 4228 物質を含む画分を集めた。この画分を濃縮し、同一条件でセファデックス LH-2.0による精製をさらに1回繰り返して SI - 4228 物質含有画分を集めた。この画分を濃縮、乾固し、次い

で少量のアセトンを加えて溶解し、さらにカーボン酸ナトリウムを加えて室内で2日間放置して220mgの針状結晶を得た。

実施例3

(乳剤)

SI-4228物質40部、キシレン45部、ソルボール3005X(東邦化学工業社製)15部を混合溶解させる。本剤を水で2,000~40,000倍に希釈して散布する。

実施例4

(水和剤)

SI-4228物質10部、デタージェント60(ライオン社製)0.9部、ソルボール800A(東邦化学工業社製)1.8部、ジークリライト(ジークリライト工業社製)87.3部を混合粉碎する。本剤を水で500~10,000倍に希釈して散布する。

試験例1

SI-4228物質のイングン灰色カビ病に対する予防効果試験

- 19 -

第3表

薬剤	濃度(ppm)	罹病度
SI-4228物質	200	0
	100	1.3
	50	3.1
	10	21.1
トヅダシン	500	0
	300	23.5
ポリオキシン	500	4.8
	200	29.4

試験例2

ナス灰色カビ病、ピーマン灰色カビ病に対する予防効果試験

播種後40日目のナス(品種:千両, 鉢植)およびピーマン(品種:ニューエース, 鉢植)各5株に所定濃度の薬剤を散布し、あらかじめ寒天培地上に生育せしめた *Botritis Cinerea* の菌糸を直径4mmのコルクホーラーで打ち抜いたものを1株につき2枚の葉にのせた。その後、試験例1と同様の方法で試験を行なつた。

播種後30日目イングン(品種:キーストン, 鉢植)5株に所定濃度の供試化合物を含む薬剤を散布し、散布24時間後に *Botritis Cinerea* の胞子懸濁液(1×10⁶個/ml)に直径8mmのペーパーディスクをつけたものをイングン1株につき2枚の葉の表面にのせた。比較のために薬剤を散布しない株にも同一の方法で菌を接種した。

その後、温度20℃、湿度100%の恒温、恒湿槽内にイングンを保持し、5日後に葉面にできた壞死長径を葉の裏面より測定し、下記の方法により罹病度を算出した。

第3表に試験結果を示した。

$$\text{罹病度} = \frac{n_1 + n_2 + \dots + n_{10}}{N_1 + N_2 + \dots + N_{10}} \times 100$$

n: 試験葉の病斑の長径(mm)

N: 無散布葉 n

- 20 -

結果を第4, 第5表に示した。

第4表 ナス灰色カビ病に対する試験

薬剤	濃度(ppm)	罹病度
SI-4228物質	200	1.2
	100	2.8
	50	4.9
	30	18.3
ポリオキシン	200	20.5

第5表 ピーマン灰色カビ病に対する試験

薬剤	濃度(ppm)	罹病度
SI-4228物質	200	2.5
	100	6.4
	50	7.7
	30	23.5
ポリオキシン	200	28.3

試験例3

キウリ炭疽病に対する予防効果試験

播種後7日目のキウリ(品種:落合, 鉢植)5株に所定濃度の供試化合物を含む薬剤を散布し、

散布 24 時間後に *Colletotrichum lagenarium* の胞子懸濁液 (1×10^6 個/ml) を散布した。比較のために薬剤を散布しない株にも同一の方法で菌を散布した。

その後、温度 23 °C, 湿度 100 % の恒温、恒温槽内に 5 日間保持し、下記の方法により罹病度を算出した。結果を第 6 表に示す。

$$\text{罹病度} = \frac{1 \times a + 2 \times b + 3 \times c + 4 \times d}{5 \times \text{全調査葉数 (N)}}$$

a, b, c, d 各スコアの葉の枚数

0: 無病徵

1: 病徵が 10 % 未満

2: 病徵が 10 % 以上、50 % 未満

3: 病徵が 50 % 以上、75 % 未満

4: 病徵が 75 % 以上

第 6 表

薬剤	濃度 (ppm)	罹病度
SI-4228 物質 (水和剤)	200	0
	100	1.20
	50	2.00
トツプジン	500	3.17

-23-

イネイモチ病に対する予防効果試験

4葉期の稻 (品種農林 29 号) 4鉢 (1 鉢/0 本植) に所定濃度の薬液を散布し、風乾した。風乾後、イネイモチ病菌 (*Pyricularia oryzae*) の胞子懸濁液 (3×10^5 個/ml) を散布し、25 °C の温室内に 4 日間保持した後、頂葉面に発生した病斑の数を測定し、薬液無散布区と比較して防除価を算出した。結果を第 8 表に示す。

$$\text{防除価} = \frac{\text{薬液処理区の病斑数}}{\text{薬液無散布区の病斑数}} \times 100$$

第 8 表 イモチ病に対する試験

薬剤	濃度 (ppm)	防除価
SI-4228 物質 (乳剤)	100	98.2
	50	94.3
	20	76.2
ヒノサン	300	93.2

試験例 4

紋枯病に対する予防効果試験

播種後 5 週目のソラマメ切葉 10 枚に所定濃度の薬液を散布し、28 °C の温室内に入れ 24 時間放置した。

一方、ポテトグルコース寒天培地であらかじめ 28 °C, 3 日間培養したイネ紋枯病菌 (*Pellicularia Saseki*) の菌叢周縁を直径 4 mm のコルクボーラーで打ち抜き、上記薬液散布 24 時間後のソラマメ葉上に接種し、28 °C の温室内で 5 日間保持して病斑の状態を観察した。結果を第 7 表に示す。

第 7 表 紋枯病に対する試験

薬剤	濃度 (ppm)	病斑の発生した枚数
SI-4228 物質 (乳剤)	100	0
	60	0
	30	1
	1.5	3
バリダマイシン	60	1
	30	5

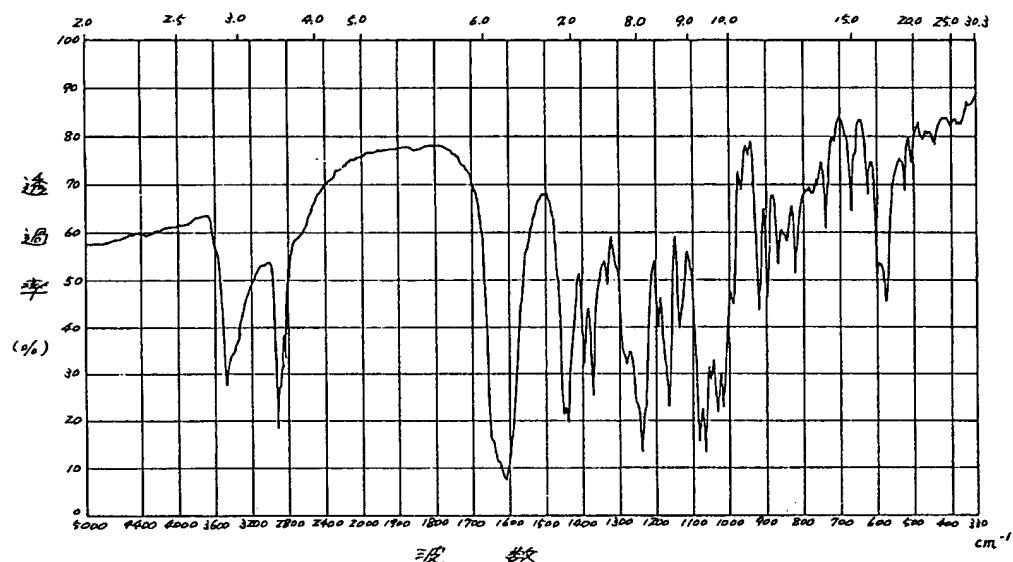
試験例 5

-24-

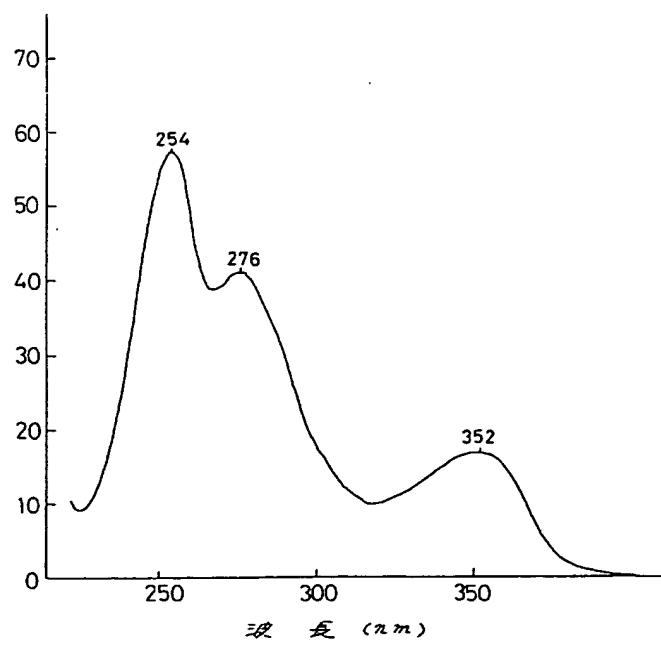
特許出願人 出光興産株式会社
代理人 井理士 久保田 雄郎

図面の削除(内容に変更なし)

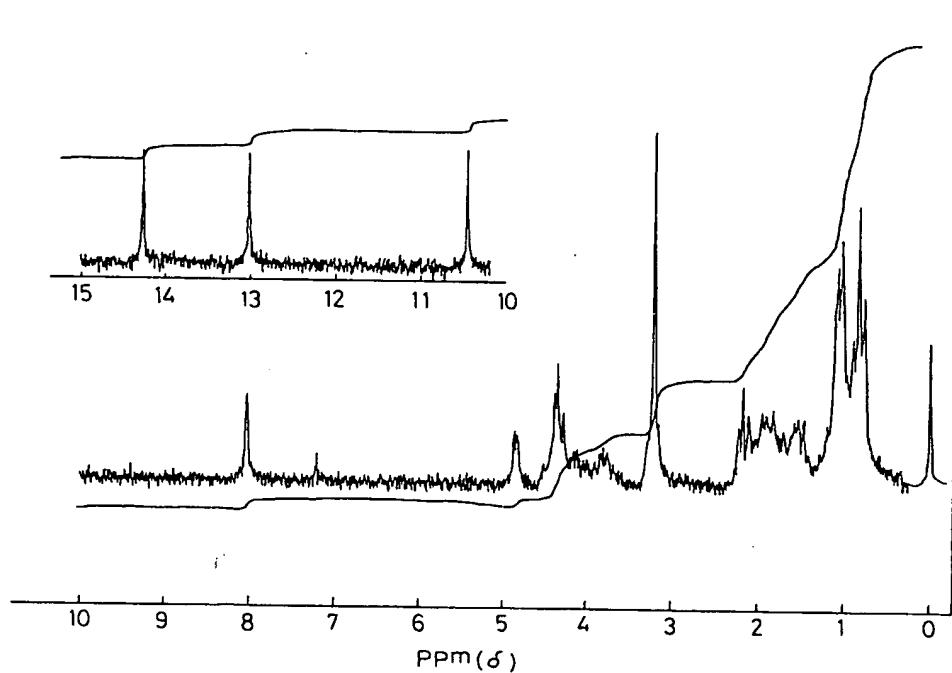
第1図



第2図



第3図



手続補正書（方式）（自発）

昭和57年1月12日

(2) 図面の添付（内容に変更なし）を提出する。

特許庁長官 島田春樹殿

7. 添付書類の目録

1. 事件の表示

(1) 訂正願書 1通

昭和56年12月29日付提出の特許書

(2) 図面 1通

2. 発明の名称

（以上）

新規抗生物質SI-4228物質、その製造方法およびそれを有効成分とする農業用殺菌剤

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

出光興産株式会社

4. 代理人

〒104

東京都中央区京橋1丁目1番10号

西久ビル5階

(7407)弁理士 久保田謙郎



5. 補正の対象

願書の添付書類の目録の欄および図面

6. 補正の内容

(1) 願書を別紙の通りに訂正する。

昭和57年1月12日

特許庁長官 鳥 田 春 樹 殿

1. 事件の表示

昭和56年12月29日付提出の特許願

2. 発明の名称

新規抗生物質 SI-4228 物質、その製造方法およびそれを有効成分とする農業用殺菌剤

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

出光興産株式会社

4. 代理人

〒104

東京都中央区京橋1丁目1番10号

西勘ビル5階

(7407)弁理士 久保田 藤 郎

電話(275)0721番



5. 補正の対象

明細書の特許請求の範囲の欄、発明の詳細な説明の欄および図面の簡単な説明の欄

- 1 -

(9) 同第20頁3行目の「*Botritis Cinerea*」を「*Botrytis Cinerea*」に訂正する。

(10) 同第20頁4～5行目の「孢子懸濁液(1×10⁶個/ml)に直径8mmのペーパーディスクをつけたものを」を「孢子懸濁液(1×10⁶個/ml)を直径8mmのペーパーディスクにつけたものを」に訂正する。

(11) 同第21頁下から4行目の「*Botritis Cinerea*の菌糸」を「*Botrytis Cinerea*の菌糸」に訂正する。

(12) 同第25頁4行目の「イネイモチ病菌(*Pyricularia oryzae*)」を「イネイモチ病菌(*Pyricularia oryzae*)」に訂正する。

13 同第25頁9行目の

「 $\text{防除率} = \frac{\text{薬液処理区の病斑数}}{\text{薬液無散布区の病斑数}} \times 100$ 」を

「 $\text{防除率} = \left(1 - \frac{\text{薬液処理区の病斑数}}{\text{薬液無散布区の病斑数}}\right) \times 100$ 」

に訂正する。

14 同第25頁の第8表の次に下記の文章を加入

特開昭58-116686(10)

6. 補正の内容

(1) 特許請求の範囲を別紙の通りに訂正する。

(2) 明細書第5頁下から3行目の「(2.5 Y, 8.5/6)」を「(2.5 Y, 8.5/6, Munsell Book of Colorによる。以下同じ)」に訂正する。

(3) 同第9頁下から4行目の「第35頁」を「第358頁」に訂正する。

(4) 同第12頁下から2行目の「+73」を「+4°」に訂正する。

(5) 同第14頁下から5行目の「ピリキュラリア。*(Pyricularia oryzae)*」を「ピリキュラリア・オリゼー」に訂正する。

(6) 同第15頁下から7行目の「炭疽病」を「炭疽病」に訂正する。

(7) 同第16頁11行目の「搅拌した、後」を「搅拌した後、」に訂正する。

(8) 同第18頁4～5行目の「アンバーライトXAD-2, 8」と「アンバーライトXAD-2, 8」とに訂正する。

- 2 -

する。

「4. 図面の簡単な説明

第1図はSI-4228物質の赤外線吸収スペクトル、

第2図はSI-4228物質の紫外線吸収スペクトル、

第3図はSI-4228物質の核磁気共鳴スペクトルである。」

(以上)

特許請求の範囲

1. 下記の性質を有する新規抗生物質 SI-4228。

(1) 元素分析値 C: 62.1%, H: 7.4%, N: 0%

(2) 分子量 480 (蒸気圧法による、溶媒: クロロホルム)

(3) 赤外線吸収スペクトル 第1図に示す通りである。

(4) 紫外線吸収スペクトル 第2図に示す通りである。

(5) 核磁気共鳴スペクトル 第3図に示す通りである。

(6) 比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = +4^\circ$ (C=1.0, メタノール)

(7) 溶解性 メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, クロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水, ローヘキサンに不溶

(8) 中性 (電気泳動法による)

(9) 呈色反応 塩化第二鉄, 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性

(10) 融点 114～116°C

(11) 物質の色 白色針状結晶

- 1 -

規抗生物質 SI-4228 の製造法。

2. ストレプトミセス属に属し、抗生物質 SI-4228 を生産する能力を有する微生物がストレプトミセス・エスピ- SI-4228 (FERM P-6198) である特許請求の範囲第2項記載の方法。

4. 下記の性質を有する新規抗生物質 SI-4228

(1) 元素分析値 C: 62.1%, H: 7.4%, N: 0%

(2) 分子量 480 (蒸気圧法による、溶媒: クロロホルム)

(3) 赤外線吸収スペクトル 第1図に示す通りである。

(4) 紫外線吸収スペクトル 第2図に示す通りである。

(5) 核磁気共鳴スペクトル 第3図に示す通りである。

(6) 比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = +4^\circ$ (C=1.0, メタノール)

(7) 溶解性 メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, クロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水, ローヘキサンに不溶

(8) 中性 (電気泳動法による)

(9) 呈色反応 塩化第二鉄, 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性

2. ストレプトミセス属に属し、下記の性質を有する抗生物質 SI-4228

(1) 元素分析値 C: 62.1%, H: 7.4%, N: 0%

(2) 分子量 480 (蒸気圧法による、溶媒: クロロホルム)

(3) 赤外線吸収スペクトル 第1図に示す通りである。

(4) 紫外線吸収スペクトル 第2図に示す通りである。

(5) 核磁気共鳴スペクトル 第3図に示す通りである。

(6) 比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = +4^\circ$ (C=1.0, メタノール)

(7) 溶解性 メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, クロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水, ローヘキサンに不溶

(8) 中性 (電気泳動法による)

(9) 呈色反応 塩化第二鉄, 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性

(10) 融点 114～116°C

(11) 物質の色 白色針状結晶

を生産する能力を有する微生物を培養し、培養物から上記抗生物質を採取することを特徴とする新

- 2 -

(12) 融点 114～116°C

(13) 物質の色 白色針状結晶

を有効成分として含有する農業用殺菌剤。

5. 灰色カビ病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農業用殺菌剤。

6. 炭疽病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農業用殺菌剤。

7. 紅枯病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農業用殺菌剤。

8. イモチ病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農業用殺菌剤。

手続補正書(方式)

昭和57年5月26日

特許庁長官 島田春樹 殿

1. 事件の表示

特願昭56-214547

2. 発明の名称

新規抗生物質SI-4228物質、その製造方法およびそれを有効成分とする農業用殺菌剤

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

出光興産株式会社

4. 代理人

〒104

東京都中央区京橋1丁目1番10号

西勘ビル5階

(7407)弁理士 久保田藤郎



5. 補正命令の日付

昭和57年4月9日

昭和57年4月27日(発送日)

- 1 -

- 2 -

手続補正書(自発)

昭和58年1月17日

特許庁長官 若杉和夫 殿

1. 事件の表示

特願昭56-214547

2. 発明の名称

新規抗生物質SI-4228物質、その製造方法およびそれを有効成分とする農業用殺菌剤

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

出光興産株式会社

4. 代理人

〒104

東京都中央区京橋1丁目1番10号

西勘ビル5階

(7407)弁理士 久保田藤郎



電話(275)0721番

5. 補正の対象

明細書の特許請求の範囲の欄、発明の詳細な説明の欄、図面の簡単な説明の欄および図面

6. 補正の対象

明細書の発明の名称の欄

7. 補正の内容

明細書第1頁3行~4行目の発明の名称「新規抗生物質SI-4228、その製造方法およびそれを有効成分とする農業用殺菌剤」を「新規抗生物質SI-4228物質、その製造方法およびそれを有効成分とする農業用殺菌剤」に訂正する。

(以上)

6. 補正の内容

(1) 特許請求の範囲(昭和57年1月12日付提出の手続補正書参照)を別紙の通りに訂正する。

(2) 明細書第12頁下から2行目の「 $[\alpha]_D^{25} = +4^\circ (c = 1.0, \text{メタノール})$ 」(昭和57年1月12日付提出の手続補正書参照)を「 $[\alpha]_D^{21} = +54 (c = 0.1, \text{メタノール})$ 」に訂正する。

(3) 同第25頁の第8表の次に加入した文章(昭和57年1月12日付提出の手続補正書の補正の内容第40項参照)である

「4. 図面の簡単な説明

第1図は... ...である。」

を

「4. 図面の簡単な説明

第1図はSI-4228物質のKBr法による赤外線吸収スペクトル、第2図はSI-4228物質のメタノール中での紫外線吸収スペクトル、第3図はSI-4228物質の重クロロホルム中での核磁気共鳴スペクトルである。」

- 1 -

に訂正する。

(4) 第2図を別紙の通りに訂正する。

(以上)

特開昭58-116086 (13)

特許請求の範囲

1. 下記の性質を有する新規抗生物質 SI-4228。
 - (1) 元素分析値 C: 62.1%, H: 7.4%, N: 0%
 - (2) 分子量 480 (蒸気圧法による、溶媒: クロロホルム)
 - (3) 赤外線吸収スペクトル 第1図に示す通りである。
 - (4) 紫外線吸収スペクトル 第2図に示す通りである。
 - (5) 核磁気共鳴スペクトル 第3図に示す通りである。
 - (6) 比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = +54$ ($\alpha = 0.1$, メタノール)
 - (7) 溶解性 メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, クロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水, ニューヘキサンに不溶
 - (8) 中性 (電気泳動法による)
 - (9) 呈色反応 塩化第二鉄, 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性
 - (10) 融点 114~116°C
 - (11) 物質の色 白色針状結晶
2. ストレプトミセス菌に属し、下記の性質を有する抗生物質 SI-4228

- 3 -

- 1 -

- (1) 元素分析値 C: 62.1%, H: 7.4%, N: 0%
- (2) 分子量 480 (蒸気圧法による、溶媒: クロロホルム)
- (3) 赤外線吸収スペクトル 第1図に示す通りである。
- (4) 紫外線吸収スペクトル 第2図に示す通りである。
- (5) 核磁気共鳴スペクトル 第3図に示す通りである。
- (6) 比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = +54$ ($\alpha = 0.1$, メタノール)
- (7) 溶解性 メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, クロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水, ニューヘキサンに不溶
- (8) 中性 (電気泳動法による)
- (9) 呈色反応 塩化第二鉄, 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性
- (10) 融点 114~116°C
- (11) 物質の色 白色針状結晶

を生産する能力を有する微生物を培養し、培養物から上記抗生物質を採取することを特徴とする新規抗生物質 SI-4228 の製造法。

3. ストレプトミセス菌に属し、抗生物質 SI-

4228 を生産する能力を有する微生物がストレプトミセス・エスピ- SI-4228 (FERM P-6198) である特許請求の範囲第2項記載の方法。

4. 下記の性質を有する新規抗生物質 SI-4228
 - (1) 元素分析値 C: 62.1%, H: 7.4%, N: 0%
 - (2) 分子量 480 (蒸気圧法による、溶媒: クロロホルム)
 - (3) 赤外線吸収スペクトル 第1図に示す通りである。
 - (4) 紫外線吸収スペクトル 第2図に示す通りである。
 - (5) 核磁気共鳴スペクトル 第3図に示す通りである。
 - (6) 比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = +54$ ($\alpha = 0.1$, メタノール)
 - (7) 溶解性 メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, クロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水, ニューヘキサンに不溶
 - (8) 中性 (電気泳動法による)
 - (9) 呈色反応 塩化第二鉄, 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性
 - (10) 融点 114~116°C
 - (11) 物質の色 白色針状結晶

を有効成分として含有する農業用殺菌剤。

5. 灰色カビ病防除剤である特許請求の範囲第4

項記載の農業用殺菌剤。

6. 塵疽病防除剤である特許請求の範囲第4項記

載の農業用殺菌剤。

7. 紋枯病防除剤である特許請求の範囲第4項記

載の農業用殺菌剤。

8. イモチ病防除剤である特許請求の範囲第4項

記載の農業用殺菌剤。

- 4 -

第2図

